

BD Multitest 6-color TBNK Reagent

50 тестов на флакон

Кат. № 644611

50 тестов на флакон с пробирками

BD Trucount

Кат. № 337166



BD, логотип BD и другие товарные знаки являются
собственностью компании Becton, Dickinson and Company.
© 2011 BD



01/2011

23-13685-02



Becton, Dickinson and Company
BD Biosciences

San Jose, CA 95131
Тел.: 877-232-8995
Факс: 408-954-2347
ClinicalApplications@bd.com

BD Biosciences

Поддержка клиентов в Европе

Тел.: 322-400-9895
Факс: 322-401-7094
help.biosciences@europe.bd.com



BENEX Limited

Rineanna House
Shannon Free Zone
Shannon, County Clare
Ирландия
Тел.: 353-61-472920
Факс: 353-61-472907

bdbiosciences.com

СОДЕРЖАНИЕ

1. НАЗНАЧЕНИЕ	5
2. ОБЩИЕ СВЕДЕНИЯ И ПОЯСНЕНИЯ	5
Клиническое применение.....	6
3. ПРИНЦИПЫ ПРИМЕНЕНИЯ	6
4. РЕАГЕНТ	7
Реагента в комплекте достаточно для проведения 50 анализов	7
Меры предосторожности	9
Хранение и обращение	11
5. ПРИБОР	12
6. ЗАБОР И ПОДГОТОВКА ОБРАЗЦОВ	12
7. РЕАГЕНТЫ И МАТЕРИАЛЫ	13
Входящие в комплект	13
Необходимые, но не входящие в комплект материалы	13
8. ПРОЦЕДУРА	14
Окрашивание клеток.....	14
Проточная цитометрия	15
Контроль качества	16
9. РЕЗУЛЬТАТЫ	16
Расчет абсолютного значения	17

10. ОГРАНИЧЕНИЯ	18
11. ОЖИДАЕМЫЕ ЗНАЧЕНИЯ	19
Диапазоны нормальных значений.....	19
12. РАБОЧИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ	20
Точность с пробирками BD Trucount	20
Точность при использовании и без использования пробирок BD Trucount.....	23
Воспроизводимость с пробирками BD Trucount.....	24
Воспроизводимость без пробирок BD Trucount	31
Стабильность	34
Линейность	35
Репрезентативные данные.....	37
ГАРАНТИЯ	41
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	41

1. НАЗНАЧЕНИЕ

Реагент BDMultitest™ 6-color TBNK Reagent с поставляемыми по специальному заказу пробирками BD Trucount™ является шестицветным реагентом прямой иммунофлуоресценции, используемым с проточными цитометрами и BD FACSCanto™ II для выявления и подсчета количества и процентного соотношения Т-, В-, и NK-клеток, а также субпопуляции CD4 и CD8 Т-клеток в периферической крови.

Реагент BD Multitest 6-Color TBNK и пробирки BD Trucount могут использоваться с загрузчиком BD FACSTM.

2. ОБЩИЕ СВЕДЕНИЯ И ПОЯСНЕНИЯ

Лимфоциты человека можно разделить на три основные субпопуляции в зависимости от их биологической функции и экспрессии поверхностного антигена клеток: Т-лимфоциты (CD3+), В-лимфоциты (CD19+) и NK-лимфоциты (CD16+CD56+). Для описания данных субпопуляций лейкоцитов BDMultitest™ 6-color TBNK Reagent можно использовать как с применением, так и без применения пробирок BD Trucount.

При использовании реагента с пробирками BD Trucount клиническое программное обеспечение BD FACSCanto (версия 2.0 и более поздняя) подсчитывает количество и процентное соотношение субпопуляций лимфоцитов, используя поток данных частиц BD Trucount и образца.

При использовании реагента без пробирок BD Trucount клиническое программное обеспечение BD FACSCanto (версия 2.4 и более поздняя) подсчитывает процентное соотношение субпопуляций лимфоцитов непосредственно из данных для потока клеток образца. Если ввести данные лимфоцитов, полученные другим прибором или методом, программное обеспечение также может рассчитать абсолютные значения.

Клиническое применение

Определение процентного соотношения или подсчет лимфоцитов CD3⁺CD4⁺ используется при мониторинге лиц, инфицированных вирусом иммунодефицита человека (ВИЧ).¹ При прогрессировании инфекции пациенты с ВИЧ показывают устойчивое снижение количества лимфоцитов CD3⁺CD4⁺.² Количество и процентное соотношение лимфоцитов CD3⁺CD4⁺ и общее количество Т- и В-лимфоцитов используется для описания и мониторинга некоторых форм иммунодефицита^{3—5} и аутоиммунных заболеваний.^{6, 7}

НК-лимфоциты, идентифицированные как CD3⁺ и CD16⁺ и (или) CD56⁺ проявляют опосредованную цитотоксичность в отношении определенных опухолей и инфицированных вирусом клеток.⁸ НК-опосредованная цитотоксичность не требует присутствия в целевой клетке молекул главного комплекса гистосовместимости (ГКГС) класса I или II.⁹

3. ПРИНЦИПЫ ПРИМЕНЕНИЯ

При добавлении цельной крови к реагентам меченные флуорохромом антитела в реагенте специфично связываются с антигенами клеточной поверхности лейкоцитов. В процессе сбора данных клетки проходят через луч лазера и рассеивают его свет. Окрашенные клетки флуоресцируют. Данные сигналы рассеяния и флуоресценции, обнаруженные прибором, предоставляют информацию о размере клетки, внутренней сложности и относительной интенсивности флуоресценции. Реагенты BD Multitest активируют флуоресценцию, делая возможным гейтирование прямой флуоресценции популяции лимфоцитов^{10—12} с целью снизить количество проникновений незрелых или ядросодержащих эритроцитов в гейт.

При использовании пробирок BD Trucount лиофилизированный осадок в пробирке растворяется, высвобождая определенное число флуоресцентных частиц. Во время анализа абсолютное количество (клеток/мкл) положительных клеток в образце определяется путем

сравнения частоты встречаемости клеток и частиц. Затем клиническое программное обеспечение BD FACSCanto (версии 2.0 или более поздней) определяет абсолютное количество.

Если пробирки BD Trucount не используются, образцы следует окрасить в полистироловых пробирках BD Falcon™ 12 x 75 мм или эквивалентных. Клиническое программное обеспечение BD FACSCanto (версии 2.4 или более поздней) также может определить абсолютное количество, если данные о лейкоцитах были получены другим методом.

4. РЕАГЕНТ

Реагента в комплекте достаточно для проведения 50 анализов

BD Multitest 6-color TBNK Reagent поставляется в 1 мл буферном солевом растворе с 0,1 % азида натрия. В нем содержатся меченные FITC- CD3, клон SK7;^{13—16} меченные PE- CD16, клон B73.1^{17—19} и CD56, клон NCAM 16.2;²⁰ меченные PerCP-Cy™5.5* CD45, клон 2D1 (HLe-1);²¹ меченные PE-Cy™7* CD4, клон SK3;^{22—24} меченные APC CD19, клон SJ25C1²⁵ и меченные APC-Cy7* CD8, клон SK1.^{22, 23}

CD3 вступает в реакцию с эпислон-цепью комплекса рецепторов антигена CD3/антигена Т-клетки (ТкР).²⁶ Антиген CD3 присутствует в 61—85 % лимфоцитов нормальной периферической крови.²⁷

* Патенты — APC-Cy7: США 5 714 386.

Cy™ является зарегистрированным товарным знаком компании Amersham Biosciences Corp. Права собственности на данный продукт принадлежат компании Amersham Biosciences Corp. и Университету Карнеги—Меллон (Carnegie Mellon University), производство и продажа по лицензии компании Amersham Biosciences Corp. Данный продукт имеет лицензию на продажу только для диагностики *in vitro*. Продукт не лицензирован для какого-либо другого использования. Если вам требуется коммерческая лицензия на использование данного продукта, и у вас ее нет, верните этот материал в невскрытом виде по адресу BD Biosciences, San Jose, CA 95131, и вам будут возмещены денежные средства, уплаченные за данный материал.

CD16 и CD56 вместе способствуют выявлению популяции NK-лимфоцитов.^{8, 11} CD16 распознает антигены человеческих NK-лимфоцитов молекулярной массой 50—70 килодальтон (кДа), которые являются рецепторами Fc для IgG.^{17, 18, 28} Реакция CD16 с гранулоцитами вариабельна.¹⁷ CD56 распознает внеклеточный иммуноглобулин-подобный домен, типичный для форм с тремя молекулярными массами (молекулярная масса 120, 140 и 180 кДа) молекулы адгезии нервных клеток (NCAM).^{29—31}

CD45 распознает антигены человеческих лейкоцитов молекулярной массой от 180 до 220 кДа, относящихся к семейству T200.³² Антиген CD45 присутствует на всех человеческих лейкоцитах, в том числе лимфоцитах, моноцитах, гранулоцитах, эозинофилах и базофилах в периферической крови.³² Насколько известно, антитело CD45 слабо вступает в реакцию со зрелыми циркулирующими эритроцитами и тромбоцитами.^{32, 33}

Антиген CD4^{23, 34}, молекулярной массой 55 кДа,¹⁴ присутствует в субпопуляции Т-лимфоцитов^{35, 36} (CD3⁺CD4⁺), которая включает в себя 28—58 %²⁷ лимфоцитов нормальной периферической крови.^{14, 23} Антиген CD4 в низкой плотности присутствует на поверхности клеток моноцитов и в цитоплазме моноцитов.

CD19 распознает антиген 90 кДа, присутствующий в В-лимфоцитах человека.^{25, 37} Антиген CD19 присутствует примерно в 7—23 % лимфоцитов периферической крови человека²⁷ и в спленоцитах.³⁸ Антиген CD19 присутствует в В-лимфоцитах человека на всех стадиях созревания.³⁹ CD19 не вступает в реакцию с активированными, а также находящимися в состоянии покоя Т-лимфоцитами, гранулоцитами или моноцитами.⁴⁰

Антиген CD8 экспрессируется на 32 кДа α -субъединицах бимолекулярного комплекса, образованного сшивкой дисульфидными связями.^{41, 42} Антиген CD8 присутствует в субпопуляции Т-лимфоцитов^{14, 23, 35, 36, 43, 44} равно как и в субпопуляции

NK-лимфоцитов.⁴⁵ Антиген CD8 присутствует в 19—48 % лимфоцитов нормальной периферической крови²⁷ и в 60—85 % нормальных тимоцитов.^{14, 23}

Антитела CD3, CD16, CD45, CD19, CD4 и CD8 состоят из тяжелых цепей мышиных антител γ_1 и легких цепей типа каппа.

Антитело CD56 состоит из тяжелых цепей мышиных антител γ_{2b} и легких цепей типа каппа.

Каждая пробирка BD Trucount содержит лиофилизированные гранулы флуоресцентных частиц в одноразовой пробирке. В каждом мешке BD Trucount содержится 25 пробирок, чего достаточно для проведения 25 анализов.

Меры предосторожности

- Для диагностики *in vitro*.
- Не использовать реагент, если наблюдаются какие-либо изменения внешнего вида. Осадок или обесцвечивание свидетельствуют о нестабильности или порче.
- Реагент антител содержит азид натрия в качестве консерванта. Однако следует принимать меры для исключения микробного загрязнения, которое может приводить к ошибочным результатам.

ОСТОРОЖНО! Азид натрия вреден при приеме внутрь (R22). Хранить отдельно от пищевых продуктов, напитков и корма для животных. Хранить контейнер плотно закрытым (S7). Не вдыхать газы, испарения, пары и аэрозоли (S23). Использовать надлежащую защитную одежду, перчатки и средства защиты глаз (S36/37/39). В случае попадания в глаза немедленно промойте их большим количеством воды и обратитесь за медицинской помощью (S26). Загрязненную одежду немедленно снять (S27). При взаимодействии с кислотами выделяется высокотоксичный газ (R32). Материал и тару от него необходимо утилизировать как опасные отходы (S60). При контакте с кислотными растворами и соединениями металлов

со временем могут образовываться взрывоопасные азиды металлов. При попадании какого-либо из материалов в канализацию смыть его большим количеством воды.

ОСТОРОЖНО! Все биологические образцы и контактирующие с ними материалы рассматриваются как биологически опасные. Они подлежат обращению как с потенциальным источником инфицирования^{46, 47} и требуют утилизации с соблюдением надлежащих мер предосторожности в соответствии с федеральными, региональными и местными нормативами. Не выполнять пипетирование ртом. Использовать надлежащую защитную одежду и перчатки.

- Необходим лизирующий раствор BD FACST[™] Lysing Solution, содержащий диэтиленгликоль и формальдегид. Предупредительные сообщения см. в листке-вкладыше изделия.
- Для получения точных результатов крайне важно добавлять в пробирки BD Trucount точное количество крови. Откалибруйте пипетки, чтобы добавлять ровно 50 мкл образца, либо используйте технику обратного пипетирования (краткое описание см. в пункте 3 на стр. 14). Для получения дополнительной информации см. инструкцию производителя пипетки.
- Содержание частиц в пробирках BD Trucount разное для каждой партии. Критически важным при введении значения содержания частиц в программное обеспечение или ручном подсчете абсолютного количества является использование значения, которое указано на текущей партии пробирок BD Trucount. Не используйте пробирки из разных партий при проведении одного анализа.
- Пробирки BD Trucount разработаны для использования со специфичной процедурой лизирования/без промывания. Для сбора данных не пытайтесь преодолеть порог прямого рассеяния (FSC).
- Не используйте ранее зафиксированные и хранившиеся образцы от пациентов. Образцы крови, охлажденные перед окрашиванием, могут давать искаженные результаты. Образцы, полученные от

пациентов, принимающих иммунодепрессанты могут привести к низкому разрешению.⁴⁹ Бластные клетки могут влиять на результаты теста. Не использовать гемолизированные образцы.

- Не используйте контрольные образцы BD Trucount с подготовленными образцами BD Multitest 6-Color TBNK. Частицы контрольного образца BD Trucount могут влиять на результаты абсолютной величины.

Хранение и обращение

- Храните реагенты при температуре от 2 до 8 °C. Реагент в открытых или закрытых флаконах стабилен до истечения срока годности, указанного на этикетке флакона. После истечения данного срока годности не использовать.
- Реагент не замораживать и не подвергать воздействию прямого солнечного света при хранении или инкубации с клетками. Не подвергайте флакон с реагентом воздействию влаги.
- Пробирки BD Trucount следует хранить в оригинальном пакете из полимерной пленки при температуре от 2 до 25 °C. Во избежание конденсации пакет следует открывать только после достижения им комнатной температуры и тщательно запечатывать сразу после извлечения пробирки. Проверяйте влагопоглотитель при каждом открывании пакета. Если влагопоглотитель изменил цвет с голубого на бледно-лиловый, утилизируйте оставшиеся пробирки. Закрытый пакет стабилен до истечения срока годности, указанного на упаковке. После истечения срока годности не открывать и не использовать. Пробирки использовать в течение 1 часа после извлечения из пакета. Оставшиеся пробирки использовать в течение 1 месяца после вскрытия пакета.

5. ПРИБОР

Реагент BD Multitest 6-Color TBNK и пробирки BD Trucount предназначены для использования на проточных цитометрах BD FACSCanto и BD FACSCanto II.

Перед эксплуатацией используйте 7-цветные калибровочные частицы BD FACST[™] и клиническое программное обеспечение BD FACSCanto для настройки напряжений фотоэлектронного умножителя (ФЭУ), установок компенсации флуоресценции и проверки прибора на чувствительность. Для автоматического расчета процентного соотношения и абсолютных показателей популяции используйте клиническое программное обеспечение BD FACSCanto с пробирками BD Trucount.

Для расчета только процентного соотношения популяции используйте клиническое программное обеспечение BD FACSCanto (версия 2.4 или более поздняя) с 12 x 75 мм пробирками BD Falcon из полистирола (или эквивалентными). Или же для того, чтобы программное обеспечение рассчитало абсолютные показатели в дополнение к процентному значению популяции, введите данные лимфоцитов, полученные другим прибором или методом.

6. ЗАБОР И ПОДГОТОВКА ОБРАЗЦОВ

Произведите забор крови из вены с соблюдением правил асептики, используя пробирки для забора крови BD Vacutainer® с EDTA.⁴⁸ BD Multitest 6-color TBNK Reagent и пробирки BD Trucount проверены с пробирками EDTA.

Для анализа необходимоне менее 50 мкл цельной крови. Соблюдайте инструкции производителя пробирки для взятия крови в отношении минимального объема крови, который необходимо взять, чтобы обеспечить нужное разбавление образца, особенно при определении абсолютного количества с использованием частиц BD Trucount.

Антикоагулированную кровь, хранимую при комнатной температуре (от 20 до 25 °C), необходимо окрашивать не позднее 24 часов с момента взятия и анализировать не позднее 6 часов с момента окрашивания.

7. РЕАГЕНТЫ И МАТЕРИАЛЫ

Входящие в комплект

- BD Multitest 6-color TBNK Reagent (BD кат. № 644611)

или

- BD Multitest 6-color TBNK Reagent с пробирками BD Trucount (BD кат. № 337166).

Необходимые, но не входящие в комплект материалы

- 7-цветные калибровочные частицы BD FACS 7-Color Setup Beads (BD кат. № 335775).
- BD FACS Lysing Solution (10X), 100 мл (BD кат. № 349202).

Для инструкций по разведению и предостережений см. вкладыш.

- Одноразовые полистироловые пробирки с крышками BD Falcon 12 x 75 мм (BD кат. № 352058) или эквивалентные (если не используются пробирки BD Trucount).
- Чистая вода (дистиллированная или деионизированная).
- Пробирки BD Vacutainer EDTA для взятия крови.
- Вихревая мешалка «вортекс».
- Микропипеточный дозатор с наконечниками.
- Дозатор масс или пипеттор для дозирования 450 мкл BD FACS Lysing Solution.
- Контроль BD™ Multi-Check (BD кат. №№ 340911, 340912, 340913).
- Контроль BD™ Multi-Check CD4 Low (BD кат. №№ 340914, 340915, 340916).

8. ПРОЦЕДУРА

Окрашивание клеток

1. Пометьте идентификационным номером пробирку BD Trucount или полистироловую пробирку BD Falcon 12 x 75 мм (или эквивалентную) с каждым образцом от пациента.

ПРИМЕЧАНИЕ. Перед использованием пробирки BD Trucount следует удостовериться, что осадок частиц BD Trucount интактен и находится под металлической сеточкой на дне пробирки. Если это не так, утилизируйте пробирку BD Trucount и используйте новую. Не переносите частицы в другую пробирку.

2. Внесите 20 мкл реагента BD Multitest 6-color TBNK Reagent на дно пробирки.

При использовании пробирки BD Trucount вносите реагент чуть выше металлической сеточки пробирки BD Trucount. Не прикасайтесь к осадку.

3. Внесите 50 мкл хорошо перемешанной, антикоагулированной цельной крови в нижнюю часть пробирки.

ПРИМЕЧАНИЕ. Не допускайте растекания крови по стенкам пробирки. Если цельная кровь останется на стенках трубки, она не будет окрашена реагентом, что может повлиять на результаты.

Аккуратное внесение особенно важно при использовании пробирки BD Trucount. Используйте технику обратного пипетирования для внесения образца на стенку пробирки чуть выше сеточки.

Для обратного пипетирования нажмите кнопку автоматического дозатора до второго упора. После отпускания кнопки образец поступает в наконечник с избытком. Нажмите кнопку до первого упора, чтобы выдать точный объем образца. Избыток образца останется в наконечнике.

4. Закройте пробирку и аккуратно перемешайте на вортексе.
Инкубируйте 15 минут в темноте при комнатной температуре (от 20 до 25 °C).
5. Добавьте в пробирку 450 мкл 1X BD FACS Lysing Solution.

Защищайте пробирки от попадания прямого света. Выполняйте процедуру при комнатной температуре (от 20 до 25 °C). См. «Меры предосторожности» на стр. 9.

6. Закройте пробирку и аккуратно перемешайте на вортексе.

Инкубируйте 15 минут в темноте при комнатной температуре (от 20 до 25 °C). Образец готов для анализа на проточном цитометре.

Проточная цитометрия

Если образцы не будут проанализированы сразу после подготовки, их следует хранить в темноте при комнатной температуре (от 20 до 25 °C). Кровь с антикоагулянтом должна быть окрашена в течение 24 часов после забора и проанализирована в течение 6 часов после окрашивания.

Для уменьшения агрегации перед запуском в проточный цитометр тщательно перемешайте клетки на вортексе на малой скорости.⁵⁰ При использовании загрузчика BD FACS перемешайте содержимое пробирок на вортексе непосредственно перед их размещением в подставки загрузчика. Получите и проанализируйте данные с помощью клинического программного обеспечения BD FACSCanto. Прежде чем анализировать образцы, отрегулируйте порог для минимизации дебриса и убедитесь, что целевые популяции включены в анализ.

См. *Инструкцию по применению (ИПП)* соответствующего прибора BD FACSCanto для синхронизации с клиническим программным обеспечением BD FACSCanto. Образцы лабораторных отчетов см. на рис. 1 на стр. 39 и рис. 2 на стр. 40.

Контроль качества

В соответствии с рекомендациями Колледжа американских патологов (CAP) компания BD рекомендует использовать два уровня жидких контрольных материалов (процедурный контроль). Их следует обработать как образцы от пациентов для контроля функционирования всего аналитического процесса. Это следует делать по крайней мере один раз в день проведения анализов.⁵¹ Компания BD предлагает контроль BD Multi-Check (BD кат. №№ 340911, 340912, 340913) и контроль BD Multi-Check CD4 Low (BD кат. №№ 340914, 340915, 340916).

При каждом запуске для оценки производительности системы используйте коммерческие контрольные образцы с установленными уровнями процентного соотношения и абсолютных величин.

Визуально проверьте точечную диаграмму CD45 и SSC. Популяция лимфоцитов должна отображаться в виде яркого, компактного кластера с низким SSC. Моноциты и гранулоциты также должны отображаться в виде отчетливых кластеров. Не продолжайте анализ, если популяции рассеяны, и отсутствует либо очень слабое разделение между кластерами. Визуально проверьте все точечные диаграммы для обеспечения надлежащего гейтирования. Для наглядной иерархии синхронизации см. табл. 16 на стр. 37 и табл. 17 на стр. 38.

На рис. 1 на стр. 39 изображены репрезентативные данные гематологически нормального образца взрослого человека, окрашенного BD Multitest 6-color TBNK Reagent в пробирке BD Trucount. Для получения информации о гейтировании и поиску и устранению неисправностей см. *Инструкцию по применению (ИПП)* соответствующего прибора BD FACSCanto.

9. РЕЗУЛЬТАТЫ

При использовании клинического программного обеспечения BD FACSCanto результаты будут отображать положительные клетки в виде процентного соотношения лимфоцитов. При использовании

пробирок BD Trucount, или если результаты гематологии получены другим прибором или методом, программное обеспечение также рассчитывает количество положительных клеток на микролитр крови (абсолютное значение).

Расчет абсолютного значения

Одноплатформенный метод. При использовании пробирок BD Trucount абсолютное количество положительных клеток в образце (клеток/мкл) определяется путем сравнения частоты встречаемости клеток и частиц.

Абсолютные значения рассчитываются клиническим программным обеспечением BD FACSCanto по следующей формуле.

$$\frac{\text{Частота встречаемости в популяции клеток}}{\text{Частота встречаемости в области абсолютного значения астиц}} \times \frac{\text{Кол-во частиц/тест*}}{\text{Тестируемый объем}} = \text{Абсолютное количество клеток популяции}$$

* Это значение указано на этикетке пакета с пробирками BD Trucount и в различных партиях может варьироваться.

Двухплатформенный метод. Для того чтобы программное обеспечение рассчитало абсолютные значения при использовании полистироловых пробирок — 12 x 75 мм (или эквивалентных) вместо пробирок BD Trucount, введите абсолютное значение количества лимфоцитов либо лейкоцитов и процентное соотношение лимфоцитов, полученные с помощью гематологического анализатора или другими способами. При расчете клиническое программное обеспечение BD FACSCanto использует одну из следующих формул:

1. Оператор предоставил абсолютное значение количества лимфоцитов на мкл.

$$\frac{\text{Частота встречаемости в популяции клеток} \times \text{количество лимфоцитов на мкл}}{\text{Полученное количество лимфоцитов}} = \text{Абсолютное количество клеток популяции}$$

2. Оператор предоставил количество лейкоцитов на мкл и процентное соотношение лимфоцитов.

$$\frac{\text{Частота встречаемости в популяции клеток} \times \text{количество лейкоцитов} \times (\% \text{ лимфоцитов}/100)}{\text{Полученное количество лимфоцитов}} = \frac{\text{Абсолютное количество}}{\text{клеток популяции}}$$

ПРИМЕЧАНИЕ. Точность расчета абсолютных значений двухплатформенным методом зависит от точности введенных в программное обеспечение значений.

10. ОГРАНИЧЕНИЯ

- Лаборатории должны устанавливать свои собственные диапазоны нормальных значений параметров BD Multitest 6-color TBNK Reagent, на которые могут оказывать влияние пол пациента, его возраст и процедура подготовки образца. Расовая принадлежность пациента⁵² и индивидуальные вариации экспрессии эпитопов⁵³ также могут оказывать влияние, хотя в настоящее время недостаточно данных для подтверждения данного факта. Возраст, пол, клиническое состояние и расовая принадлежность пациента должны быть известны при определении диапазона нормальных значений.⁵⁴ Указанные диапазоны нормальных значений носят только информационный характер.
- BD Multitest 6-color TBNK Reagent не предназначен для скрининга образцов на наличие лейкозных клеток или для использования с образцами для фенотипирования пациентов, больных лейкемией.
- Абсолютные значения различны в лабораториях, использующих оборудование разных производителей.
- BD Multitest 6-color TBNK Reagent не валидирован компанией BD Biosciences для использования с жидкими антикоагулянтами гепарином и ACD (кислота-цитрат-декстроза) при расчете абсолютных показателей с использованием пробирок BD Trucount.

11. ОЖИДАЕМЫЕ ЗНАЧЕНИЯ

Диапазоны нормальных значений

Диапазоны нормальных значений для BD Multitest 6-color TBNK Reagent с пробирками BD Trucount, приведенные в табл. 1, определены в BD Biosciences в Сан-Хосе, штат Калифорния. Субъектами были взрослые здоровые люди в возрасте от 18 до 65 лет. Более подробная информация о диапазонах нормальных значений указана в пункте 1 раздела «Ограничения» (раздел 10, стр. 18).

Табл. 1. Типичные диапазоны нормальных значений для BD Multitest 6-color TBNK Reagent с использованием пробирок BD Trucount

Субпопуляция лимфоцитов	n	Среднее значение (%)	95 % диапазон
CD3 ⁺ CD4 ⁺	123	46,4	28,2—62,8
CD3 ⁺ CD8 ⁺	123	24,0	10,2—40,1
Общее значение CD3 ⁺	123	71,1	49,1—83,6
CD3 ⁺ CD19 ⁺	123	14,9	6,5—27,0
CD3 ⁺ (CD16 + CD56) ⁺	123	11,7	4,2—25,2
Субпопуляция лимфоцитов	n	Среднее значение (клеток/мкл)	95 % диапазон
CD3 ⁺ CD4 ⁺	123	1106	441—2156
CD3 ⁺ CD8 ⁺	123	583	125—1312
Общее значение CD3 ⁺	123	1705	603—2990
CD3 ⁺ CD19 ⁺	123	354	107—698
CD3 ⁺ (CD16 + CD56) ⁺	123	266	95—640

12. РАБОЧИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Рабочие характеристики реагентов были установлены в результате испытаний в BD Biosciences в Сан Хосе, штат Калифорния, и в двух клинических лабораториях США.

Точность с пробирками BD Trucount

Проточный цитометр BD FACSCanto II и проточный цитометр BD FACSCanto

Процентное соотношение и абсолютные значения субпопуляции лимфоцитов были подсчитаны с использованием BD Multitest 6-color TBNK Reagent в пробирках BD Trucount и проанализированы в проточном цитометре BD FACSCanto II с использованием клинического программного обеспечения BD FACSCanto версии 2.1. Результаты сравнивались с результатами реагента, анализируемого в проточном цитометре BD FACSCanto с использованием клинического программного обеспечения BD FACSCanto версии 2.0.

Образцы цельной крови забирались случайным образом в двух клинических лабораториях. Статистика регрессии приведена в табл. 2.

Табл. 2. Регрессионный анализ для процентного соотношения и абсолютных значений субпопуляций (проточный цитометр BD FACSCanto II и проточный цитометр BD FACSCanto)

Субпопуляция лимфоцитов	n	Единица измерения	r ²	Наклон	Точка пересечения с осью ординат	Диапазон
CD3 ⁺ CD4 ⁺	104	клеток/мкл	0,997	0,94	20,96	6—2079
		%	0,994	1,0	0,47	1—57
CD3 ⁺ CD8 ⁺	104	клеток/мкл	0,987	0,93	35,43	62—3462
		%	0,989	1,0	0,44	11—82
Общее значение CD3 ⁺	104	клеток/мкл	0,976	0,93	60,19	217—3952
		%	0,971	0,99	1,77	50—92

Табл. 2. Регрессионный анализ для процентного соотношения и абсолютных значений субпопуляций (проточный цитометр BD FACSCanto II и проточный цитометр BD FACSCanto)

Субпопуляция лимфоцитов	n	Единица измерения	r ²	Наклон	Точка пересечения с осью ординат	Диапазон
CD3-CD19 ⁺	104	клеток/мкл	0,980	0,96	4,25	0—820
		%	0,985	1,0	-0,04	0—38
CD3 ⁻ (CD16 + CD56) ⁺	104	клеток/мкл	0,953	0,91	2,30	15—633
		%	0,964	1,0	-0,5	2—33

BD Multitest 6-color TBNK Reagent и реагент из набора BD Multitest IMK Kit

Процентное соотношение и абсолютные значения субпопуляций лимфоцитов были подсчитаны с использованием BD Multitest 6-color TBNK Reagent в пробирках BD Trucount и проанализированы в проточном цитометре BD FACSCanto с использованием клинического программного обеспечения BD FACSCanto версии 2.0. Результаты сравнивались с результатами реагента из BD Multitest™ IMK Kit с использованием пробирок BD Trucount, также анализируемого в проточном цитометре BD FACSCanto с использованием клинического программного обеспечения BD FACSCanto версии 2.0.

Образцы цельной крови забирались случайным образом в двух клинических лабораториях. Статистика регрессии приведена в табл. 3.

Табл. 3. Регрессионный анализ для процентного соотношения и абсолютных значений субпопуляций (BD Multitest 6-color TBNK Reagent и реагент из BD Multitest IMK Kit)

Субпопуляция лимфоцитов	n	Единица измерения	r ²	Наклон	Точка пересечения с осью ординат	Диапазон
CD3 ⁺ CD4 ⁺	117	клеток/мкл	0,995	0,965	6,0	4—1593
		%	0,998	1,0	0,0423	1—67
CD3 ⁺ CD8 ⁺	117	клеток/мкл	0,994	0,956	7,01	51—2146
		%	0,996	0,983	0,00592	11—83
Общее значение CD3 ⁺	117	клеток/мкл	0,995	0,968	13,5	107—3403
		%	0,996	0,985	0,895	34—88
CD3 ⁺ CD19 ⁺	117	клеток/мкл	0,992	0,973	6,97	1—1207
		%	0,993	0,999	0,33	0—36
CD3 ⁺ (CD16 + CD56) ⁺	117	клеток/мкл	0,99	0,98	-0,291	7—918
		%	0,992	0,985	0,0603	2—51

Точность при использовании и без использования пробирок BD Trucount

Клиническое программное обеспечение BD FACSCanto версии 2.4 и 2.2 и проточный цитометр BD FACSCanto

Процентное соотношение субпопуляции лимфоцитов было определено, используя BD Multitest 6-color TBNK Reagent без использования пробирок BD Trucount и проанализировано в проточном цитометре BD FACSCanto с помощью клинического программного обеспечения BD FACSCanto версии 2.4. Результаты сравнивались с результатами того же реагента с использованием пробирок BD Trucount, анализируемого в проточном цитометре BD FACSCanto с помощью клинического программного обеспечения BD FACSCanto версии 2.2.

Образцы цельной крови брались в BD Biosciences. Статистика регрессии приведена в табл. 4.

Табл. 4. Регрессионный анализ для процентных соотношений субпопуляций (клиническое программное обеспечение BD FACSCanto версии 2.4 и 2.2 и проточный цитометр BD FACSCanto)

Субпопуляция лимфоцитов	n	Единица измерения	r ²	Наклон	Точка пересечения с осью ординат	Диапазон
CD3 ⁺ CD4 ⁺	52	%	0,995	0,979	0,567	1—62
CD3 ⁺ CD8 ⁺	52	%	0,992	0,989	0,542	10—68
Общее значение CD3 ⁺	52	%	0,988	1,000	-0,173	36—88
CD3 ⁻ CD19 ⁺	52	%	0,989	1,037	-0,553	0—37
CD3 ⁻ (CD16 + CD56) ⁺	52	%	0,988	0,997	0,178	4—40

Клиническое программное обеспечение BD FACSCanto версии 2.4 и 2.2 и проточный цитометр BD FACSCanto II

Процентное соотношение субпопуляций лимфоцитов было определено, используя BD Multitest 6-color TBNK Reagent без использования пробирок BD Trucount и проанализировано в проточном цитометре BD FACSCanto II с помощью клинического программного обеспечения BD FACSCanto версии 2.4. Результаты сравнивались с результатами того же реагента с использованием пробирок BD Trucount, анализируемого в проточном цитометре BD FACSCanto II с помощью клинического программного обеспечения BD FACSCanto версии 2.2.

Образцы цельной крови брались в BD Biosciences. Статистика регрессии приведена в табл. 5.

Табл. 5. Регрессионный анализ для процентных соотношений субпопуляций (клиническое программное обеспечение BD FACSCanto версии 2.4 и 2.2 и проточный цитометр BD FACSCanto II)

Субпопуляция лимфоцитов	n	Единица измерения	r ²	Наклон	Точка пересечения с осью ординат	Диапазон
CD3 ⁺ CD4 ⁺	52	%	0,994	0,996	-0,001	1—61
CD3 ⁺ CD8 ⁺	52	%	0,993	1,006	0,310	11—68
Общее значение CD3 ⁺	52	%	0,982	1,012	-0,919	36—87
CD3 ⁺ CD19 ⁺	52	%	0,985	0,985	0,039	0—35
CD3 ⁻ (CD16 + CD56) ⁺	52	%	0,986	1,034	-0,485	5—40

Воспроизводимость с пробирками BD Trucount

Проточный цитометр BD FACSCanto II

Оценка воспроизводимости производилась в одном месте, BD Biosciences, с использованием двух идентичных образцов при двух разных уровнях концентрации аналита. Образцы были проанализированы на трех различных приборах тремя разными операторами (один оператор и один прибор в день).

Два отдельных анализа были проведены в течение каждого из 21 дня тестирования, что в общей сложности составило 42 анализа. Перед каждым из 42 анализов была произведена калибровка с использованием BD FACS 7-Color Setup Beads. На всем протяжении исследования использовалась одна партия реагентов и калибровочных частиц. Концентрации, при которых проводился анализ воспроизводимости, см. в табл. 6.

Табл. 6. Концентрации, при которых проводился анализ воспроизводимости (проточный цитометр BD FACSCanto II)

Субпопуляция лимфоцитов	Среднее значение CDL ^a (%)	Среднее значение CDC ^b (%)
CD3 ⁺ CD4 ⁺	10,2	46,3
CD3 ⁺ CD8 ⁺	39,3	24,0
Общее значение CD3 ⁺	54,1	73,1
CD3 ⁻ CD19 ⁺	26,0	15,3
CD3 ⁻ (CD16 + CD56) ⁺	18,2	10,6
Субпопуляция лимфоцитов	Среднее значение CDL (клеток/мкл)	Среднее значение CDC (клеток/мкл)
CD3 ⁺ CD4 ⁺	202,6	1326,7
CD3 ⁺ CD8 ⁺	780,1	686,8
Общее значение CD3 ⁺	1074,5	2091,5
CD3 ⁻ CD19 ⁺	516,9	493,3
CD3 ⁻ (CD16 + CD56) ⁺	361,1	303,7

- a. CDL = контроль CD-Chex[®] Plus CD4 Low
(CD-Chex является зарегистрированным товарным знаком компании Streck, Inc.)
b. CDC = контроль CD-Chex Plus

Воспроизводимые стандартные отклонения (SD) и коэффициенты вариации (CV) для процентных соотношений и абсолютных значений субпопуляций (тот же оператор, метод, оборудование, время и лаборатория согласно требованиям Института клинических и лабораторных стандартов (CLSI)) и воспроизводимость для одного прибора приведены в табл. 7 и табл. 8.

Табл. 7. Повторяемость результатов и воспроизводимость для одного прибора в отношении процентных значений субпопуляций (проточный цитометр BD FACSCanto II)

Субпопуляция лимфоцитов (%)	CDL ^a SD		CDC ^b SD	
	Для одного исследования	Для одного прибора	Для одного исследования	Для одного прибора
CD3 ⁺ CD4 ⁺	0,47	0,47	0,76	0,80
CD3 ⁺ CD8 ⁺	1,10	1,18	0,75	0,76
Общее значение CD3 ⁺	1,32	1,32	0,82	0,87
CD3 ⁺ CD19 ⁺	1,07	1,09	0,57	0,60
CD3 ⁻ (CD16 + CD56) ⁺	0,78	0,80	0,57	0,58

a. CDL = контроль CD-Chex® Plus CD4 Low

b. CDC = контроль CD-Chex Plus

Табл. 8. Повторяемость результатов и воспроизводимость для одного прибора в отношении абсолютных значений субпопуляций (проточный цитометр BD FACSCanto II)

Субпопуляция лимфоцитов (клеток/мкл)	CDL ^a %CV		CDC ^b %CV	
	Для одного исследования	Для одного прибора	Для одного исследования	Для одного прибора
CD3 ⁺ CD4 ⁺	5,1	5,1	3,6	4,0
CD3 ⁺ CD8 ⁺	4,9	5,1	4,5	4,5
Общее значение CD3 ⁺	4,2	4,3	3,3	3,6
CD3 ⁻ CD19 ⁺	5,6	5,6	5,4	6,0
CD3 ⁻ (CD16 + CD56) ⁺	5,4	5,6	5,9	6,3

a. CDL = контроль CD-Chex[®] Plus CD4 Low

b. CDC = контроль CD-Chex Plus

Проточный цитометр BD FACSCanto

Оценка воспроизводимости производилась в одном месте, BD Biosciences, с использованием двух идентичных образцов при двух разных уровнях концентрации аналита. Образцы были проанализированы на трех различных приборах тремя разными операторами (один оператор и один прибор в день). Два отдельных анализа были произведены в течение каждого из 21 дня тестирования, что в общей сложности дало 42 анализа. Перед каждым из 42 анализов была произведена калибровка с использованием BD FACS 7-Color Setup Beads. На всем протяжении исследования использовалась одна партия реагентов и калибровочных частиц.

Концентрации, при которых проводился анализ воспроизводимости, см. в табл. 9.

Табл. 9. Концентрации, при которых проводился анализ воспроизводимости (проточный цитометр BD FACSCanto)

Субпопуляция лимфоцитов	Среднее значение CDL ^a (%)	Среднее значение CDC ^b (%)
CD3 ⁺ CD4 ⁺	9,3	47,5
CD3 ⁺ CD8 ⁺	41,9	24,5
Общее значение CD3 ⁺	55,2	74,3
CD3 ⁻ CD19 ⁺	25,0	14,4
CD3 ⁻ (CD16 + CD56) ⁺	18,7	10,6
Субпопуляция лимфоцитов	Среднее значение CDL (клеток/мкл)	Среднее значение CDC (клеток/мкл)
CD3 ⁺ CD4 ⁺	175,9	1,299,4
CD3 ⁺ CD8 ⁺	190,3	671,0
Общее значение CD3 ⁺	1039,7	2030,5
CD3 ⁻ CD19 ⁺	471,4	393,6
CD3 ⁻ (CD16 + CD56) ⁺	353,3	289,9

a. CDL = контроль CD-Chex® Plus CD4 Low

b. CDC = контроль CD-Chex Plus

Значения SD и CV для повторяемости результатов и воспроизводимости для одного прибора в отношении абсолютных и процентных значений субпопуляций приведены в табл. 10 и табл. 11.

Табл. 10. Повторяемость результатов и воспроизводимость для одного прибора в отношении процентных значений субпопуляций (проточный цитометр BD FACSCanto)

Субпопуляция лимфоцитов (%)	CDL ^a SD		CDC ^b SD	
	Для одного исследования	Для одного прибора	Для одного исследования	Для одного прибора
CD3 ⁺ CD4 ⁺	0,64	0,69	0,95	1,23
CD3 ⁺ CD8 ⁺	1,07	1,29	0,65	0,81
Общее значение CD3 ⁺	1,17	1,23	0,86	0,90
CD3 ⁻ CD19 ⁺	0,89	0,89	0,62	0,62
CD3 ⁻ (CD16 + CD56) ⁺	0,90	0,96	0,61	0,62

a. CDL = контроль CD-Chex[®] Plus CD4 Low

b. CDC = контроль CD-Chex Plus

Табл. 11. Повторяемость результатов и воспроизводимость для одного прибора в отношении абсолютных значений субпопуляций (проточный цитометр BD FACSCanto)

Субпопуляция лимфоцитов (клеток/мкл)	CDL ^a %CV		CDC ^b %CV	
	Для одного исследования	Для одного прибора	Для одного исследования	Для одного прибора
CD3 ⁺ CD4 ⁺	7,6	8,0	4,7	4,8
CD3 ⁺ CD8 ⁺	4,1	5,0	4,7	5,4
Общее значение CD3 ⁺	4,0	4,4	4,2	4,2
CD3 ⁻ CD19 ⁺	5,7	6,0	5,3	5,7
CD3 ⁻ (CD16 + CD56) ⁺	7,0	8,0	7,9	7,9

a. CDL = контроль CD-Chex® Plus CD4 Low

b. CDC = контроль CD-Chex Plus

Воспроизводимость без пробирок BD Trucount

Проточный цитометр BD FACSCanto II

Оценка воспроизводимости производилась в одном месте, BD Biosciences, с использованием двух идентичных образцов при двух разных уровнях концентрации аналита. Образцы были проанализированы на трех различных приборах тремя разными операторами (один оператор и один прибор в день). Два отдельных анализа были проведены в течение каждого из 21 дня тестирования, что в общей сложности составило 42 анализа. Перед каждым из 42 анализов была произведена калибровка с использованием BD FACS 7-Color Setup Beads. На всем протяжении исследования использовалась одна партия реагентов и калибровочных частиц. Концентрации, при которых проводился анализ воспроизводимости, см. в табл. 12.

Табл. 12. Концентрации, при которых проводился анализ воспроизводимости для процентных соотношений (проточный цитометр BD FACSCanto II)

Субпопуляция лимфоцитов	Среднее значение CDL ^a (%)	Среднее значение CDC ^b (%)
CD3 ⁺ CD4 ⁺	11,0	46,4
CD3 ⁺ CD8 ⁺	37,3	23,9
Общее значение CD3 ⁺	52,4	72,8
CD3 ⁻ CD19 ⁺	26,1	14,7
CD3 ⁻ (CD16 + CD56) ⁺	19,5	11,4

a. CDL = контроль CD-Chex® Plus CD4 Low

(CD-Chex является зарегистрированным товарным знаком компании Streck, Inc.)

b. CDC = контроль CD-Chex Plus

Значения SD для повторяемости результатов и воспроизводимости для одного прибора в отношении процентных значений субпопуляций приведены в табл. 13.

Табл. 13. Повторяемость результатов и воспроизводимость для одного прибора в отношении процентных значений субпопуляций (проточный цитометр BD FACSCanto II)

Субпопуляция лимфоцитов (%)	CDL ^a SD		CDC ^b SD	
	Для одного исследования	Для одного прибора	Для одного исследования	Для одного прибора
CD3 ⁺ CD4 ⁺	0,56	0,77	0,73	0,93
CD3 ⁺ CD8 ⁺	0,80	1,66	0,58	1,12
Общее значение CD3 ⁺	1,03	1,34	0,81	0,90
CD3 ⁻ CD19 ⁺	0,70	0,73	0,50	0,50
CD3 ⁻ (CD16 + CD56) ⁺	0,72	0,84	0,64	0,66

a. CDL = контроль CD-Chex® Plus CD4 Low

b. CDC = контроль CD-Chex Plus

Проточный цитометр BD FACSCanto

Оценка воспроизводимости производилась в одном месте, BD Biosciences, с использованием двух идентичных образцов при двух разных уровнях концентрации аналита. Образцы были проанализированы на трех различных приборах тремя разными операторами (один оператор и один прибор в день). Два отдельных анализа были произведены в течение каждого из 21 дня тестирования, что в общей сложности дало 42 анализа. Перед каждым из 42 анализов была произведена калибровка с использованием BD FACS 7-Color Setup Beads. На всем протяжении исследования использовалась одна партия реагентов и калибровочных частиц.

Концентрации, при которых проводился анализ воспроизводимости, см. в табл. 14

Табл. 14. Концентрации, при которых проводился анализ воспроизводимости для процентных соотношений (проточный цитометр BD FACSCanto)

Субпопуляция лимфоцитов	Среднее значение CDL ^a (%)	Среднее значение CDC ^b (%)
CD3 ⁺ CD4 ⁺	11,2	46,5
CD3 ⁺ CD8 ⁺	37,2	23,7
Общее значение CD3 ⁺	52,4	72,7
CD3 ⁻ CD19 ⁺	25,9	14,8
CD3 ⁻ (CD16 + CD56) ⁺	19,4	11,4

a. CDL = контроль CD-Chex[®] Plus CD4 Low

b. CDC = контроль CD-Chex Plus

Значения SD для повторяемости результатов и воспроизводимости для одного прибора в отношении процентных значений субпопуляций приведены в табл. 15.

Табл. 15. Повторяемость результатов и воспроизводимость для одного прибора в отношении процентных значений субпопуляций (проточный цитометр BD FACSCanto)

Субпопуляция лимфоцитов (%)	CDL ^a SD		CDC ^b SD	
	Для одного исследования	Для одного прибора	Для одного исследования	Для одного прибора
CD3 ⁺ CD4 ⁺	0,57	0,76	0,86	1,05
CD3 ⁺ CD8 ⁺	0,96	1,56	0,64	1,16
Общее значение CD3 ⁺	1,28	1,42	0,77	0,96
CD3 ⁺ CD19 ⁺	0,72	0,84	0,51	0,60
CD3 ⁺ -(CD16 + CD56) ⁺	0,74	0,90	0,58	0,68

a. CDL = контроль CD-Chex® Plus CD4 Low

b. CDC = контроль CD-Chex Plus

Стабильность

Исследование стабильности в целях оценки стабильности реагента BD Multitest в пробирке BD Trucount проводилось в двух клинических лабораториях, были определены следующие параметры:

- изменения, связанные с хранением цельной крови перед окрашиванием;
- изменения в результате временного интервала между окрашиванием и сбором данных;
- совмещение этих двух эффектов.

Образцы цельной крови тестировались не позднее 52 часов после забора, окрашенные образцы — не позднее 24 часов после окрашивания.

Все образцы перед окрашиванием или анализом данных содержались при комнатной температуре (от 20 до 25 °C).

Основываясь на результатах этого исследования,* мы рекомендуем проводить окрашивание в пределах 24 часов после забора и анализировать окрашенные образцы в пределах 6 часов после окрашивания.

Линейность

Проточный цитометр BD FACSCanto II

Линейность анализа BD Multitest 6-Color TBNK с использованием пробирок BD Trucount оценивалась в системе BD FACSCanto II в пределах концентрации лейкоцитов от 0 до $3,3 \times 10^4$ клеток/мкл. В пределах указанного диапазона наблюдалась линейность полученных результатов.

Субпопуляция	Диапазон (клеток/мкл)
CD4	1—4494
CD8	2—2922
CD3	4—7382
CD19	0—863
CD16 + CD56	0—435

* Соответствующие данные можно получить в BD Biosciences.

Проточный цитометр BD FACSCanto

Линейность анализа BD Multitest 6-Color TBNK с использованием пробирок BD Trucount оценивалась тройным измерением девяти концентраций CD4⁺ Т-лимфоцитов в системе BD FACSCanto. В пределах указанного диапазона наблюдалась линейность полученных результатов.

Субпопуляция	Диапазон (клеток/мкл)
CD4	4—2234

Абсолютные значения определялись для других субпопуляций в пределах ранее указанного диапазона CD4⁺ Т-лимфоцитов.

Диапазоны для субпопуляций были следующими:

- от 158 до 1125 клеток/мкл для CD8⁺ Т-лимфоцитов;
- от 498 до 3356 клеток/мкл для CD3⁺ Т-лимфоцитов;
- от 71 до 447 клеток/мкл для CD19⁺ В-лимфоцитов;
- от 0 до 1559 клеток/мкл для CD16⁺ и CD56⁺ NK-лимфоцитов.

Все результаты для субпопуляций в пределах этих диапазонов были линейными.

Репрезентативные данные

Табл. 16. BD Multitest 6-color TBNK Reagent с пробирками BD Trucount:
CD3/CD16 + CD56/CD45/CD4/CD19/CD8

Диаграмма	Целевые популяции
CD45 и SSC	лимфоциты
CD19 и SSC	частицы BD Trucount
CD3 и SSC	клетки CD3 ⁻ клетки CD3 ⁺
CD8 и CD4	субпопуляции клеток CD3 ⁺ : клетки CD4 ⁻ CD8 ⁺ клетки CD4 ⁺ CD8 ⁻ клетки CD4 ⁺ CD8 ⁺
CD16 + CD56 и CD19	субпопуляции клеток CD3 ⁻ : клетки (CD16 + CD56) ⁻ CD19 ⁺ клетки (CD16 + CD56) ⁺ CD19 ⁻

Визуальное представление иерархии

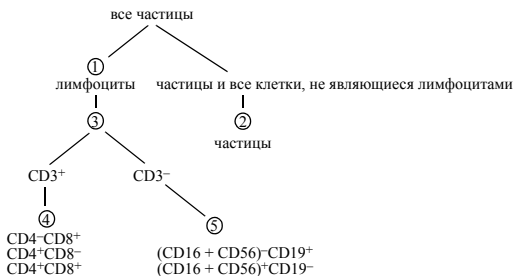
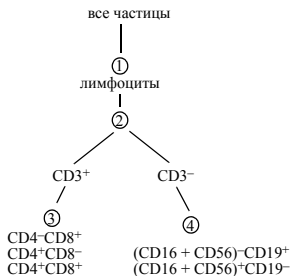


Табл. 17. BD Multitest 6-Color TBNK Reagent без пробирок BD Trucount:
CD3/CD16 + CD56/CD45/CD4/CD19/CD8

Диаграмма	Целевые популяции
CD45 и SSC	лимфоциты
CD3 и SSC	клетки CD3 ⁻ клетки CD3 ⁺
CD8 и CD4	субпопуляции клеток CD3 ⁺ : клетки CD4 ⁻ CD8 ⁺ клетки CD4 ⁺ CD8 ⁻ клетки CD4 ⁺ CD8 ⁺
CD16 + CD56 и CD19	субпопуляции клеток CD3 ⁻ : клетки (CD16 + CD56) ⁻ CD19 ⁺ клетки (CD16 + CD56) ⁺ CD19 ⁻

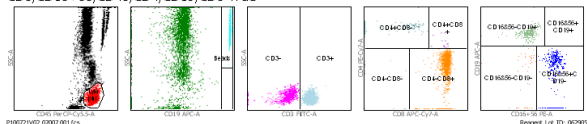
Визуальное представление иерархии



P100721V02 07		
Director: RV/TF		Panel: 6 Color TBNK + TruC
		Acquired: 07/21/2005 4:13:20 PM
		Analyzed: 10/18/2005 11:08:05 AM
		TruC Lot ID: 11806
		Bead/Pellet: 49945
		Status: OK
		Operator: SS
		Reviewer:
		Results: 18102005.csv
Column #1:	Column #2:	Column #3:
BD FACSCanto V0002		BD FACSCanto v2.0

CD3/CD16+56/CD45/CD4/CD19/CD8 TruC

Total Events: 10037



Parameter	Percent	Value/AbsCnt
Lymph Events		3300
Bead Events		2144
CD3+	76.79	1180.60
CD3+CD8+	61.39	943.92
CD3+CD4+	14.58	224.10
CD3+CD4+CD8+	0.42	6.52
CD16+CD56+	12.30	189.16
CD19+	9.67	148.62
CD45+		1537.49
4/8 Ratio		0.24

QC Messages

% T-Sum is: 0.82
Lymphsum is: 98.76
4/8 ratio is: 0.24

Comments

Рис. 1. Лабораторный отчет BD FACSCanto отражает данные, полученные с пробирками BD Trucount

1010**003930**

Director:

Panel: 6 Color TBNK
 Acquired: 12/3/2008 3:20:06 PM
 Analyzed: 12/3/2008 3:20:06 PM
 Status: OK
 Operator: PL
 Reviewer:
 Results: 03122008.csv

WBC Count (x1000):

Lymphs (%):

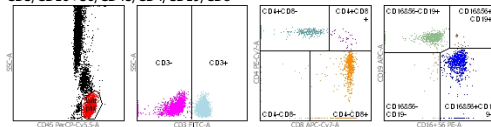
Lymphs (x1000):

BD FACSCanto II V96300005

BD FACSCanto v.2.4

CD3/CD16+56/CD45/CD4/CD19/CD8

Total Events: 10045



Reagent Lot ID: 24771

Parameter	Percent	Value/AbsCnt
Lymph Events		4211
CD3+	62.48	0
CD3+CD8+	26.72	0
CD3+CD4+	35.55	0
CD3+CD4+CD8+	0.88	0
CD16+CD56+	18.93	0
CD19+	17.43	0
CD45+		0
4/8 Ratio		1.33

QC Messages

% T-Sum is: 0.21

Lymphosum is: 98.84

4/8 ratio is: 1.33

Comments

Рис. 2. Лабораторный отчет BD FACSCanto отражает данные, полученные без пробирок BD Trucount

ГАРАНТИЯ

Если иное не оговорено в каких-либо действующих общих условиях продаж компании ВД для клиентов за пределами США, на приобретение данных продуктов распространяются следующие гарантийные обязательства.

ДЛЯ ПРОДАВАЕМЫХ СОГЛАСНО ДАННЫМ УСЛОВИЯМ ПРОДУКТОВ ГАРАНТИРУЕТСЯ ТОЛЬКО СОБЛЮДЕНИЕ КОЛИЧЕСТВА И СОДЕРЖИМОГО, УКАЗАННЫХ НА ЭТИКЕТКЕ ИЛИ МАРКИРОВКЕ ПРОДУКТА НА МОМЕНТ ДОСТАВКИ ЗАКАЗЧИКУ. КОМПАНИЯ ВД НАСТОЯЩИМ ОТВЕРГАЕТ ЛЮБЫЕ ДРУГИЕ ГАРАНТИИ, ЯВНЫЕ ИЛИ ПОДРАЗУМЕВАЕМЫЕ, ВКЛЮЧАЯ ГАРАНТИИ КОММЕРЧЕСКОЙ ВЫГОДЫ, ПРИГОДНОСТИ ДЛЯ КОНКРЕТНЫХ ЦЕЛЕЙ И НАРУШЕНИЯ ПРАВ ТРЕТЬИХ СТОРОН. ВСЯ ОТВЕТСТВЕННОСТЬ КОМПАНИИ ВД ОГРАНИЧИВАЕТСЯ ЛИБО ЗАМЕНОЙ ПРОДУКТОВ, ЛИБО ВОЗМЕЩЕНИЕМ ЦЕНЫ ПОКУПКИ. КОМПАНИЯ ВД НЕ НЕСЕТ ОТВЕТСТВЕННОСТИ ЗА ПОВРЕЖДЕНИЕ ИМУЩЕСТВА И ЛЮБОЙ СОПУТСТВУЮЩИЙ ИЛИ КОСВЕННЫЙ УЩЕРБ, ВКЛЮЧАЯ ТРАВМЫ И ЭКОНОМИЧЕСКИЕ УБЫТКИ, ВЫЗВАННЫЕ ДАННЫМ ПРОДУКТОМ.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Giorgi JV, Hultin LE. Lymphocyte subset alterations and immunophenotyping by flow cytometry in HIV disease. *Clin Immunol Newslett.* 1990;10:55-61.
2. Landay A, Ohlsson-Wilhelm B, Giorgi JV. Application of flow cytometry to the study of HIV infection. *AIDS.* 1990;4:479-497.
3. Schmidt RE. Monoclonal antibodies for diagnosis of immunodeficiencies. *Blut.* 1989;59:200-206.
4. Nicholson JKA. Use of flow cytometry in the evaluation and diagnosis of primary and secondary immunodeficiency diseases. *Arch Pathol Lab Med.* 1989;113:598-605.
5. Foucar K, Goeken JA. Clinical application of immunologic techniques to the diagnosis of lymphoproliferative and immunodeficiency disorders. *Lab Med.* 1982;13:403-413.
6. Cohen SB, Weetman AP. Activated interstitial and intraepithelial thyroid lymphocytes in autoimmune thyroid disease. *Acta Endocrinol.* 1988;119:161-166.
7. Smolen JS, Chused TM, Leiserson WM, Reeves JP, Alling D, Steinberg AD. Heterogeneity of immunoregulatory T-cell subsets in systemic lupus erythematosus: correlation with clinical features. *Am J Med.* 1982;72:783-790.
8. Fitzgerald-Bocarsly P, Herberman R, Hercend T, et al. A definition of natural killer cells. In: Ades EW, Lopez C, eds. *Natural Killer Cells and Host Defense.* Basel: Karger; 1989:1.
9. Lanier LL, Le AM, Civin CI, Loken MR, Phillips JH. The relationship of CD16 (Leu-11) and Leu-19 (NKH-1) antigen expression on human peripheral blood NK cells and cytotoxic T lymphocytes. *J Immunol.* 1986;136:4480-4486.

10. Nicholson JKA, Jones BM, Hubbard M. CD4 T-lymphocyte determinations on whole blood specimens using a single-tube three-color assay. *Cytometry*. 1993;14:685-689.
11. Nicholson J, Kidd P, Mandy F, Livnat D, Kagan J. Three-color supplement to the NIAID DAIDS guideline for flow cytometric immunophenotyping. *Cytometry*. 1996;26:227-230.
12. Nicholson JKA, Hubbard M, Jones BM. Use of CD45 fluorescence and side-scatter characteristics for gating lymphocytes when using the whole blood lysis procedure and flow cytometry. *Cytometry*. 1996;26:16-21.
13. Haynes BF. Summary of T-cell studies performed during the Second International Workshop and Conference on Human Leukocyte Differentiation Antigens. In: Reinherz EL, Haynes BF, Nadler LM, Bernstein ID, eds. *Leukocyte Typing II: Human T Lymphocytes*. New York, NY: Springer-Verlag; 1986;1:3-30.
14. Ledbetter JA, Evans RL, Lipinski M, Cunningham-Rundles C, Good RA, Herzenberg LA. Evolutionary conservation of surface molecules that distinguish T-lymphocyte helper/inducer and T cytotoxic/suppressor subpopulations in mouse and man. *J Exp Med*. 1981;153:310-323.
15. Kan EAR, Wang CY, Wang LC, Evans RL. Noncovalently bonded subunits of 22 and 28 kd are rapidly internalized by T cells reacted with Anti-Leu-4 antibody. *J Immunol*. 1983;131:536-539.
16. Knowles RW. Immunochemical analysis of the T-cell-specific antigens. In: Reinherz EL, Haynes BF, Nadler LM, Bernstein ID, eds. *Leukocyte Typing II: Human T Lymphocytes*. New York, NY: Springer-Verlag; 1986;1:259-288.
17. Perussia B, Starr S, Abraham S, Fanning V, Trinchieri G. Human natural killer cells analyzed by B73.1, a monoclonal antibody blocking Fc receptor functions. I. Characterization of the lymphocyte subset reactive with B73.1. *J Immunol*. 1983;130:2133-2141.
18. Perussia B, Acuto O, Terhorst C, et al. Human natural killer cells analyzed by B73.1, a monoclonal antibody blocking Fc receptor functions. II. Studies of B73.1 antibody-antigen interaction on the lymphocyte membrane. *J Immunol*. 1983;130:2142-2148.
19. Schmidt RE. Non-lineage/natural killer section report: new and previously defined clusters. In: Knapp W, Dörken B, Gilks WR, et al, eds. *Leukocyte Typing IV: White Cell Differentiation Antigens*. New York, NY: Oxford University Press; 1989:517-542.
20. Ritz J, Trinchieri G, Lanier LL. NK-cell antigens: section report. In: Schlossman SF, Boumsell L, Gilks W, et al, eds. *Leukocyte Typing V: White Cell Differentiation Antigens*. New York, NY: Oxford University Press; 1995;2:1367-1372.
21. Cobbold SP, Hale G, Waldmann H. Non-lineage, LFA-1 family, and leucocyte common antigens: new and previously defined clusters. In: McMichael AJ, ed. *Leukocyte Typing III: White Cell Differentiation Antigens*. New York, NY: Oxford University Press; 1987:788-803.
22. Bernard A, Boumsell L, Hill C. Joint report of the first international workshop on human leucocyte differentiation antigens by the investigators of the participating laboratories: T2 protocol. In: Bernard A, Boumsell L, Dausset J, Milstein C, Schlossman SF, eds. *Leukocyte Typing*. New York, NY: Springer-Verlag; 1984:25-60.

23. Evans RL, Wall DW, Platsoucas CD, et al. Thymus-dependent membrane antigens in man: inhibition of cell-mediated lympholysis by monoclonal antibodies to the T_{H2} antigen. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1981;78:544-548.
24. Wood GS, Warner NL, Warnke RA. Anti-Leu-3/T4 antibodies react with cells of monocyte/macrophage and Langerhans lineage. *J Immunol*. 1983;131:212-216.
25. Nadler LM. B Cell/Leukemia Panel Workshop: summary and comments. In: Reinherz EL, Haynes BF, Nadler LM, Bernstein ID, eds. *Leucocyte Typing II: Human B Lymphocytes*. New York, NY: Springer-Verlag; 1986;2:3-43.
26. van Dongen JJM, Krissansen GW, Wolvers-Tettero ILM, et al. Cytoplasmic expression of the CD3 antigen as a diagnostic marker for immature T-cell malignancies. *Blood*. 1988;71:603-612.
27. Reichert T, DeBruyère M, Deneys V, et al. Lymphocyte subset reference ranges in adult Caucasians. *Clin Immunol Immunopath*. 1991;60:190-208.
28. Perussia B, Trinchieri G, Jackson A, et al. The Fc receptor for IgG on human natural killer cells: phenotypic, functional, and comparative studies with monoclonal antibodies. *J Immunol*. 1984;133:180-189.
29. Lanier LL, Chang C, Azuma M, Ruitenberg JJ, Hemperly JJ, Phillips JH. Molecular and functional analysis of human natural killer cell-associated neural cell adhesion molecule (N-CAM/CD56). *J Immunol*. 1991;146:4421-4426.
30. Schubert J, Lanier LL, Schmidt RE. Cluster report: CD56. In: Knapp W, Dörken B, Gilks WR, et al, eds. *Leucocyte Typing IV: White Cell Differentiation Antigens*. New York, NY: Oxford University Press; 1989:699-702.
31. Cunningham BA, Hemperly JJ, Murray BA, Prediger EA, Brackenbury R, Edelman GM. Neural cell adhesion molecule: structure, immunoglobulin-like domains, cell surface modulation, and alternative RNA splicing. *Science*. 1987;236:799-806.
32. Schwinzer R. Cluster report: CD45/CD45R. In: Knapp W, Dörken B, Gilks WR, et al, eds. *Leucocyte Typing IV: White Cell Differentiation Antigens*. New York, NY: Oxford University Press; 1989:628-634.
33. Jackson A. Basic phenotyping of lymphocytes: selection and testing of reagents and interpretation of data. *Clin Immunol Newslett*. 1990;10:43-55.
34. Bernard A, Boumsell L, Hill C. Joint report of the first international workshop on human leucocyte differentiation antigens by the investigators of the participating laboratories. In: Bernard A, Boumsell L, Dausset J, Milstein C, Schlossman SF, eds. *Leucocyte Typing*. New York, NY: Springer-Verlag; 1984:9-108.
35. Engleman EG, Benike CJ, Glickman E, Evans RL. Antibodies to membrane structures that distinguish suppressor/cytotoxic and helper T lymphocyte subpopulations block the mixed leukocyte reaction in man. *J Exp Med*. 1981;153:193-198.
36. Kotzin BK, Benike CJ, Engleman EG. Induction of immunoglobulin secreting cells in the allogeneic mixed leukocyte reaction: regulation by helper and suppressor lymphocyte subsets in man. *J Immunol*. 1981;127:931-935.

-
37. Moldenhauer G, Dörken B, Schwartz R, Pezzutto A, Knops J, Hammerling GJ. Analysis of ten B lymphocyte-specific workshop monoclonal antibodies. In: Reinherz EL, Haynes BF, Nadler LM, Bernstein ID, eds. *Leucocyte Typing II: Human B Lymphocytes*. New York, NY: Springer-Verlag; 1986;2:61-67.
 38. Tedder T, Zhou L-J, Engel P. The CD19/CD21 signal transduction complex of B lymphocytes. *Immunol Today*. 1994;15:437-442.
 39. Dörken B, Möller P, Pezzutto A, Schwartz-Albiez R, Moldenhauer G. B-cell antigens: CD19. In: Knapp W, Dörken B, Gilks WR, et al, eds. *Leucocyte Typing IV: White Cell Differentiation Antigens*. New York, NY: Oxford University Press; 1989:34-36.
 40. Loken MR, Shah VO, Dattilio KL, Civin CI. Flow cytometric analysis of human bone marrow. II. Normal B-lymphocyte development. *Blood*. 1987;70:1316-1324.
 41. Moebius U. Cluster report: CD8. In: Knapp W, Dörken B, Gilks WR, et al, eds. *Leucocyte Typing IV: White Cell Differentiation Antigens*. New York, NY: Oxford University Press; 1989:342-343.
 42. Terry LA, Disanto JP, Small TN, Flomenberg N. Differential expression of the CD8 and Lys-3 antigens on a subset of human T-cell receptor γ/δ -bearing lymphocytes. In: Knapp W, Dörken B, Gilks WR, et al, eds. *Leucocyte Typing IV: White Cell Differentiation Antigens*. New York, NY: Oxford University Press; 1989:345-346.
 43. Engleman EG, Benike CJ, Evans RL. Circulating antigen-specific suppressor T cells in a healthy woman: mechanism of action and isolation with a monoclonal antibody. *Clin Res*. 1981;29:365A.
 44. Ledbetter JA, Frankel AE, Herzenberg LA. Human Leu T-cell differentiation antigens: quantitative expression on normal lymphoid cells and cell lines. In: Hämmerling G, Hämmerling U, Kearney J, eds. *Monoclonal Antibodies and T Cell Hybridomas: Perspectives and Technical Notes*. New York, NY: Elsevier/North Holland; 1981:16-22.
 45. Lanier LL, Le AM, Phillips JH, Warner NL, Babcock GF. Subpopulations of human natural killer cells defined by expression of the Leu-7 (HNK-1) and Leu-11 (NK-15) antigens. *J Immunol*. 1983;131:1789-1796.
 46. *Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections—Second Edition; Approved Guideline*. Villanova, PA: National Committee for Clinical Laboratory Standards; 2001. NCCLS document M29-A2.
 47. Centers for Disease Control. Update: universal precautions for prevention of transmission of human immunodeficiency virus, hepatitis B virus, and other bloodborne pathogens in health-care settings. *MMWR*. 1988;37:377-388.
 48. *Procedures for the Collection of Diagnostic Blood Specimens by Venipuncture—Fourth Edition; Approved Standard*. Wayne, PA: National Committee for Clinical Laboratory Standards; 1998. NCCLS document H3-A4.
 49. Giorgi JV. Lymphocyte subset measurements: significance in clinical medicine. In: Rose NR, Friedman H, Fahey JL, eds. *Manual of Clinical Laboratory Immunology*. 3rd ed. Washington, DC: American Society for Microbiology; 1986:236-246.

-
50. Jackson AL, Warner NL. Preparation, staining, and analysis by flow cytometry of peripheral blood leukocytes. In: Rose NR, Friedman H, Fahey JL, eds. *Manual of Clinical Laboratory Immunology*. 3rd ed. Washington, DC: American Society for Microbiology; 1986:226-235.
 51. Flow Cytometry Checklist. In: College of American Pathologists (CAP) Flow Cytometry Checklist, Dec 2004: www.cap.org/apps/docs/laboratory_accreditation/checklists_flow_cytometry_december2004.doc
 52. Prince HE, Hirji K, Waldbeser LS, Plaeger-Marshall S, Kleinman S, Lanier LL. Influence of racial background on the distribution of T-cell subsets and Leu 11-positive lymphocytes in healthy blood donors. *Diagn Immunol*. 1985;3:33-37.
 53. Angadi CV. Lack of Leu-3a epitope on T-helper (CD4) lymphocytes. *J Clin Lab Anal*. 1990;4:193-195.
 54. *How to Define and Determine Reference Intervals in the Clinical Laboratory; Approved Guideline—Second Edition*. Wayne, PA: National Committee for Clinical Laboratory Standards; 2000. NCCLS document C28-A2.